

Efek Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan

Devi Saputri Bahman^{*)}, Yuliet, Ihwan

Laboratorium Farmakologi-Biofarmasi Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu.

^{*)}Corresponding Author: Devibahman@gmail.com (ph: +62-852-5471-0001)

ABSTRACT

Garcinia rostrata Hassk.ex Hook.f is a plant that empirically used for lowering blood glucose levels. This study was aimed to determine antidiabetic activity of the n-hexane, ethyl acetate and ethanol-water fractions of its root *Grostrata* Hassk.ex Hook.f extract as well as to compare their effects to Glibenclamide as the positive control in alloxan-induced mice. The mice divided into five groups. The first group was given Na.CMC 0.5% (as negative control) and the second one was given Glibenclamide 0.65 mg/kgBW (as positive control), while the other three was given of n-hexane, ethyl acetate and ethanol-water fractions, each at a dose of 130 mg/kgBW. Before given the treatment, the mice was induced by alloxan at a dose of 150 mg/kgBW, by intraperitoneal route. At fourth day after induced, the mice its raising blood glucose level >200 mg/dL was given a treatment 25 days by oral route. The level of mice blood glucose was measured 4 times at day 4, 11, 18, and 25, the blood is taken from lateralis vein tail of mice. The Data were analyzed by ANOVA and continued by Duncan test. Based on those results, it can be concluded that the ethanol-water fraction at doses of 130 mg/kgBW has antidiabetic activity in hyperglycemic that is comparable to Glibenclamide. Whereas, ethyl acetate fraction, at dose of 130 mg/kgBW has greater activity in lowering blood glucose level than glibenclamide.

Keywords: *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f, Fraction, n-hexane, Ethyl acetate, Ethanol-water, Alloxan.

PENDAHULUAN

Perubahan gaya hidup dan sosial ekonomi akibat urbanisasi dan modernisasi terutama di masyarakat kota-kota besar di Indonesia menjadi penyebab meningkatnya prevalensi penyakit degeneratif potensial dan tidak menutup kemungkinan akan menjadi penyebab utama kematian di Indonesia. Beberapa jenis penyakit yang masuk dalam kelompok penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus, jantung koroner, hipertensi, hiperlipidemia, dan sebagainya. Salah satu yang harus

diwaspadai adalah diabetes mellitus (Sudoyo, *et al.*, 2009).

Diabetes melitus adalah suatu penyakit kronik yang kompleks yang melibatkan kelainan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak dengan efek lanjutan berkembangnya komplikasi makrovaskuler dan neurologis. Diabetes melitus ditandai dengan adanya gangguan pada toleransi glukosa yaitu peningkatan kadar glukosa dalam darah yang berkaitan dengan penurunan kemampuan individu dalam memberi respon terhadap insulin.

Gangguan toleransi glukosa merupakan resiko terjadinya aterosklerosis dan sering berkaitan dengan penyakit kardiovaskular, hipertensi, serta dislipidemia (Riyadi, 2008).

Berdasarkan data Riskesdas 2013 menyatakan prevalensi diabetes mellitus berdasarkan diagnosis dokter gejala terdiagnosis di Sulawesi Tengah yaitu 3,7 % (Anonim, 2013). Sedangkan *International Diabetes Federation* (IDF) Diabetes Atlas 2015 menyatakan bahwa Indonesia berada di urutan ke-7 dari 10 negara teratas dengan penderita diabetes tertinggi setelah Cina, India, USA, Brazil, Rusia, Mexico dimana jumlah penderita diabetesnya sebanyak 10 juta jiwa dan akan terus meningkat hingga pada tahun 2040 (Anonim, 2015).

Meningkatnya prevalensi penyakit diabetes mellitus dari tahun ke tahun memerlukan perhatian yang sangat besar dalam pengobatannya. Selain itu, penyakit diabetes mellitus memerlukan pengobatan jangka panjang dan biaya yang mahal, sehingga perlu dicari obat antidiabetes yang relatif murah dan terjangkau oleh masyarakat. Sebagai salah satu alternatif adalah dengan melakukan penelitian tentang obat tradisional yang mempunyai efek hipoglikemia. Pada tahun 1980 WHO merekomendasikan agar dilakukan penelitian terhadap tanaman yang memiliki efek menurunkan kadar gula darah karena pemakaian obat modern kurang aman (Kumar *et al.*, 2005).

Garcinia rostrata Hassk.ex Hook.f merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dimanfaatkan masyarakat di daerah Morowali, khususnya di desa Taliwan, kecamatan Mori Utara yang digunakan sebagai obat herbal antidiabetes. Bagian yang digunakan dari tumbuhan tersebut adalah akarnya. Penelitian Nifien, (2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol air akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji mencit jantan (*Mus musculus*) yang di induksi aloksan pada dosis 130 mg/kg.

Ekstrak akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f mengandung senyawa kimia golongan alkaloid dan flavonoid (Nifien, 2014). Flavonoid diduga berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel-sel β pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat diatasi. Flavonoid yang terkandung dalam tanaman juga dapat memperbaiki sensitivitas insulin (Abdelmoaty, *et al.*, 2009).

Berdasarkan uraian diatas, gunakan redaksi lain efek antidiabetes akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f. dalam bentuk fraksi. Pembuatan ekstrak etanol air akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f secara refluks yang kemudian difraksinasi berturut-turut dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol air berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi

dilakukan untuk menyederhanakan kandungan zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga dapat diketahui komponen senyawa yang berperan dalam menurunkan kadar gula darah yang nantinya dapat dikembangkan menjadi Obat herbal terstandar atau fitofarmaka. Adapun hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) dengan metode induksi aloksan

BAHAN DAN METODE

Tahap Persiapan Bahan Uji

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f yang diperoleh dari kabupaten Morowali Utara, Kecamatan Mori Utara, Desa Taliwan. Determinasi tanaman dilakukan di UPT Sumber daya Hayati Sulawesi (Herbarium Universitas Tadulako) Palu, Sulawesi Tengah. Akar tersebut dibersihkan dengan air bersih kemudian diangin-anginkan hingga diperoleh Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f 300g selanjutnya direfluks dengan etanol 96% selama 4 jam, kemudian disaring. Ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan alat rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Tadulako.

Tahap Ekstraksi

Simplisia Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f diekstraksi dengan

menggunakan metode Refluks menggunakan pelarut etanol 96% selama 4 jam. Ekstrak cair hasil Refluks diuapkan dengan menggunakan alat *Vaccum Rotary Evaporator* hingga didapatkan hasil berupa ekstrak kental.

Tahap Uji Penapisan Fitokimia

Ekstrak Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f yang didapatkan kemudian diuji kualitatif menggunakan reaksi warna terhadap adanya senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, saponin, steroid dan triterpenoid.

Tahap Pengujian Fraksi Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f

Mencit sebanyak 25 ekor di kelompokkan ke dalam 5 kelompok secara acak sehingga tiap kelompok terdiri atas 5 ekor Mencit. Pada hari pengujian, masing-masing hewan ditimbang dan diberi tanda pada kaki kirinya. Mula-mula hewan uji dipuasakan selama 16 jam dengan tetap diberi minum (*ad libitum*), kemudian darah diambil melalui vena ekor mencit dan diukur kadar glukosa darah puasa awal (T_0). Kemudian mencit dibuat diabetes dengan cara injeksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB secara intraperitoneal. Diukur kadar glukosa darah mencit setelah induksi, mencit dikatakan mengalami diabetes apabila kadar glukosa darahnya >200 mg/dL. Adapun perlakuan yang diberikan sebagai berikut

Kelompok kontrol negatif diberi Na CMC

0,5%, Kelompok kontrol positif diberi glibenklamid 0,65 mg/kg BB, Kelompok uji diberi suspensi fraksi n-heksan, etil asetat, dan etanol-air akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex dengan dosis masing-masing 130 mg/kg BB. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama 2 minggu. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke 3, 7 dan 14 setelah perlakuan.

Cara pengambilan Darah dan Pengukuran kadar glukosa darah

Darah mencit diambil melalui vena lateralis ekor mencit yang sebelumnya disterilkan dengan alkohol 70%. Dipotong secara aseptik kira-kira 1-2 mm dari ujung ekor dan dilakukan pemijatan perlahan terhadap ekor agar darah keluar. Diukur dengan menggunakan glucometer (*Eassy touch*) untuk menentukan kadar gula darah mencit.

Analisis Data

Selanjutnya data yang diperoleh dalam penelitian dianalisis secara statistik dengan uji One Way Anova, dilanjutkan dengan uji Post Hoc Duncan untuk melihat perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Uji Duncan dilakukan untuk melihat perbedaan terkecil antar kelompok perlakuan dan kelompok pembanding.

HASIL EKSTRAKSI

Hasil ekstrak akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f menggunakan metode

refluks dengan pelarut etanol 96% didapatkan bobot ekstrak kental sebanyak 22,4 g dengan hasil rendemen sebesar 7,46% (b/b).

HASIL PENAPISAN FITOKIMIA

Hasil penapisan fitokimia Fraksi Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia fraksi Akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f

Golongan Senyawa	Hasil identifikasi		
	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol air
Flavanoid	-	-	+
Alkaloid	-	+	+
Fenolik	+	+	+
Saponin	-	-	-
Steroid/Triterp enoid	-	-	-

Keterangan: + = menunjukkan adanya golongan senyawa yang diuji
- = menunjukkan tidak adanya golongan senyawa yang diuji

HASIL EVALUASI EFEK FRAKSI AKAR *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah pada mencit jantan, diperoleh hasil rerata penurunan kadar glukosa darah masing-masing hewan setelah induksi dan setelah perlakuan pada hari ke-11, ke-18, ke-25 disajikan perlakuan glukosa darah seperti dibawah ini.

Tabel 2. Rata-Rata penurunan kadar glukosa

Kelompok Perlakuan	Penurunan rerata kadar glukosa darah		
	Δ_1	Δ_2	Δ_3
Kelompok 1	-	-28,00±55,91 ^a	-19,00±56,33 ^a
Kelompok 2	24,20±47,55 ^a	131,80±32,00 ^{cd}	172,80±27,54 ^c
Kelompok 3	64,00±28,78 ^b	69,60±19,06 ^b	93,40±20,99 ^b
Kelompok 4	42,80±9,65 ^b	161,00±16,74 ^d	263,80±60,46 ^d
Kelompok 5	54,60±40,41 ^b	105,40±21,10 ^{bc}	141,20±30,06 ^{bc}

Sumber : (Data Primer, 2016)

Keterangan :

 Δ_1 : Selisih kadar glukosa darah pada hari ke-4 dan hari ke-11 Δ_2 : Selisih kadar glukosa darah pada hari ke-4 dan hari ke-18 Δ_3 : Selisih kadar glukosa darah pada hari ke-4 dan hari ke-25

Kelompok 1: Kelompok kontrol negatif Na CMC 0,5%

Kelompok 2: Kelompok kontrol positif glibenklamid

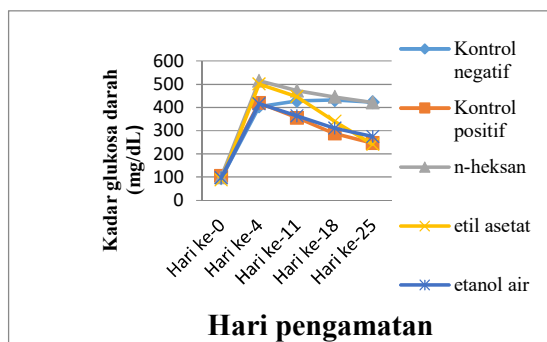
Kelompok 3: Kelompok fraksi n-heksan 130 mg/kg BB

Kelompok 4: Kelompok fraksi etil asetat 130 mg/kg BB

Kelompok 5: Kelompok fraksi etanol air 130 mg/kg BB

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($\alpha = 0,05$)

Gambar penurunan profil kadar glukosa darah mencit sebelum dan setelah induksi serta pemberian sediaan fraksi akar *Garcinia rostrata* Hassk.ex Hook.f dengan dosis 130 mg/kg BB.



Gambar 1. Grafik penurunan kadar glukosa darah.

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini bahan uji yang digunakan akar *G rostrata* Hassk.ex Hook.f. Pemilihan bahan uji didasarkan pada penelitian sebelumnya serta data empiris bahwa akar *G rostrata* Hassk.ex Hook.f dapat menurunkan kadar glukosa darah hewan uji mencit jantan (*M musculus*) yang diinduksi aloksan pada dosis 130 mg/kg BB (Nifien, 2014). Akar tanaman *G rostrata* Hassk.ex Hook.f dijadikan ekstrak kental terlebih dahulu melalui metode refluks karena bahan uji yang digunakan mempunyai tekstur yang keras. Proses maserasi bahan uji menggunakan pelarut etanol 96% karena

merupakan campuran hidroalkohol dengan air yang dapat melarutkan zat-zat yang dapat larut alkohol dan larut air serta berguna untuk mengekstraksi zat aktif dari bahan kasar serta efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Ansel, 1989). Rendemen ekstrak kental yang diperoleh sebesar 7,46% .

Selanjutnya dilakukan proses fraksinasi. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya terhadap pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Proses fraksinasi dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya akan mempengaruhi jenis senyawa bioaktif dan aktivitas antidiabetes. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat mulai dari memisahkan senyawa non-polar menggunakan pelarut yang bisa menarik senyawa non-polar yaitu n-heksan kemudian dilanjutkan dengan senyawa yang bersifat semi polar menggunakan pelarut yang bersifat semi polar yaitu etil asetat, dan etanol-air digunakan sebagai pelarut polar untuk menarik senyawa yang bersifat polar.

Masing-masing fraksi akar *G. rostrata* Hassk.ex Hook.f yang diperoleh diidentifikasi secara kualitatif untuk mengetahui kandungan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut. Hasil uji penapisan fitokimia menunjukkan bahwa fraksi n-heksan akar *G. rostrata* Hask.ex Hook.f mengandung senyawa fenolik. Fraksi etil asetat positif mengandung senyawa alkaloid dan

fenolik. Fraksi etanol air mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, dan fenolik.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit, karena mudah dirawat, ditangani, kelengkapan organ, metabolisme dan kebutuhan nutrisi menyerupai manusia. Mencit yang digunakan mencit jantan karena memiliki aktivitas hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina. Mencit dewasa muda dengan usia 2-3 bulan mempunyai keadaan fisiologis menyerupai manusia. Sebanyak 25 ekor dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberi suspensi Na CMC 0,5%, kelompok kontrol positif diberi suspensi glibenklamid dosis 0,65 mg/kg BB digunakan glibenklamid karena, glibenklamid merupakan obat golongan sulfonilurea generasi kedua yang sering digunakan pasien DM. Kelompok uji dibagi dalam 3 kelompok fraksi dengan dosis yang sama yaitu 130 mg/kg BB. Mencit yang diuji diaklimatisasi selama 7 hari agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan. Dilakukan pengukuran kadar glukosa darah awal pada hewan uji. Sebelum dilakukan pengukuran hewan uji dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberi minum. Hal ini dilakukan untuk menghindari pengaruh komponen yang terkandung dalam makanan mencit yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah awal mencit.

Hewan uji diinduksi menggunakan aloksan secara i.p dengan dosis 170 mg/kg BB. Secara umum mencit

hiperglikemik dapat dihasilkan dengan induksi aloksan dosis 65 mg/kg BB secara intravena sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Szkudelski, 2001; Rees and Alcolado, 2005). Hewan uji mengalami hiperglikemia setelah 4 hari. Kadar glukosa darah setelah induksi berkisar antara 404-515 mg/dL. Peningkatan kadar glukosa darah mencit cukup beragam karena adanya perbedaan respon tubuh masing-masing mencit terhadap aloksan. Hewan uji yang hiperglikemia ditandai dengan poliuria, yang ditandai dengan basah dan lembabnya sekam. Kerusakan sel beta pankreas oleh aloksan disebabkan pembentukan oksigen reaktif yang merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pada sel beta pankreas, reaksi aloksan pada senyawa yang mempunyai gugus -SH akan menimbulkan reaksi oksidasi peptide glutation didalam sel dan membentuk asam dilaurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan. Hasil reoksidasi ini menghasilkan radikal bebas berupa radikal superoksida. Radikal ini mengalami reaksi dismutasi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Adanya ion ferro dan H_2O_2 membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif melalui reaksi fenton sehingga merusak DNA sel beta pankreas (Lenzen & Panten, 1988). Mencit yang telah mengalami hiperglikemia diberi perlakuan selama 25 hari. Perlakuan diberikan satu kali sehari selama tiga

minggu dan dilakukan pengukuran kadar glukosa sebanyak tiga kali yaitu pada hari ke-11, ke-18, dan ke-25.

Setelah perlakuan, terjadi penurunan kadar glukosa, semua kelompok. Berdasarkan uji ANOVA, hasil pengujian pada hari ke-11, 18, 25 menunjukkan adanya perbedaan antara perlakuan dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) yang dilanjutkan dengan uji analisis Duncan. Dimana menunjukkan bahwa kontrol positif glibenklamid tidak berbeda bermakna dengan fraksi etanol-air akar *Garcinia rostrata* dosis 130 mg/kg BB dimana hasil statistik menunjukkan pada hari ke 25 rerata penurunan pada glibenklamid sebesar 172,80 mg/dL sedangkan pada etanol air 141,20 mg/dL. Sedangkan efek antidiabetes fraksi etil asetat dosis 130 mg/kg BB lebih besar dibandingkan kontrol positif glibenklamid dimana penurunan kadar glukosa darah fraksi etil asetat yaitu 263,80 mg/dL. Efek antidiabetes fraksi n-heksan dan kontrol negatif memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok positif, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat dimana dihasilkan penurunan kadar glukosa darah yang lebih rendah. Penurunan kadar glukosa darah pada kontrol negatif sebesar -19,00 mg/dL sedangkan pada fraksi n-heksan sebesar 19,40 mg/dL. Hasil efek antidiabetes pada semua kelompok menunjukkan hasil yang bervariasi. Adanya variasi aktivitas disebabkan perbedaan komponen senyawa kimia

yang terkandung dalam masing-masing fraksi.

Pada kontrol negatif terjadi peningkatan dan penurunan karena setiap hewan uji memiliki sistem daya tahan tubuh yang berbeda-beda serta adanya proses homeostasis tubuh yang merupakan pengaturan fisiologis untuk kembali keadaan normal. Efek fraksi n-heksan dalam penurunan kadar glukosa darah lebih kecil dibanding fraksi etil asetat dan fraksi etanol air. Hal ini dikarenakan golongan senyawa yang terdapat pada n-heksan hanya senyawa fenolik. Hal ini juga didukung oleh Khanum R., *et. al* (2014) yang menyatakan bahwa dalam fraksi n-heksan terdapat senyawa fenolik. Penurunan kadar glukosa paling besar yaitu pada fraksi etanol air dan fraksi etil asetat disebabkan fraksi etanol air mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan fenolik sedangkan senyawa yang terdapat pada fraksi etil asetat alkaloid dan fenolik dimana senyawa-senyawa ini yang berpotensi untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan mekanisme kerja berbeda..

Senyawa Flavanoid dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara memperbaiki (regenerasi) sel β pankreas yang rusak serta merangsang pelepasan insulin lebih. Flavonoid mempunyai sifat sebagai antioksidan yang dapat melindungi kerusakan sel-sel pankreas oleh radikal bebas. (Arjadi & Susatyo 2007). Sedangkan fenolik adalah

komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan yang berfungsi dalam melawan radikal bebas dan juga sebagai logam pengkhat. Fenolik bekerja dengan mengganggu struktur lipid oksidasi dengan mendonorkan atom hidrogen dari fenolik (Shahidi Fereidoon, dkk, 2009)

Alkaloid bekerja dengan menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan sekresi Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH), sehingga sekresi Growth Hormone (GH) pada hipofise meningkat. Kadar GH yang tinggi akan menstimulasi hati untuk mensekresikan Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1). IGF-1 mempunyai efek dalam menginduksi hipoglikemia dan menurunkan glukoneogenesis sehingga kadar glukosa darah dan kebutuhan insulin menurun. IGF-1 melalui negative feed back system akan menormalkan kembali kadar GH (Bunting K, et al., 2006).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmoaty, M.A., Ibrahim, M.A., Ahmed, N.S., Abdelaziz, M.A. (2010). Confirmatory Studies on the Antioxidant and Antidiabetic Effect of Quercetin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*
- Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam, Serial Farmasi Industri Ed-Revisi*, Penerbit ITB, Bandung.
- Anonim, (2013), *Riset Kesehatan Dasar*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Anonim, (2015), *Exec Sumarry Atlas Diabetes 7th Edition*, Shutterstock, American
- Arjadi F, Susatyo P. (2007). Regenerasi Sel Pulau Langerhans Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diberi Rebusan Daging Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarp / (scheff.) Boerl.*) 2(2): 118-122.
- Bunting, K., J.K. Wang and M.F. Shannan. (2006) Control of Interleukin-2-gene Transcription: a Paradigm For Inducible, Tissue Specific Gene Expressions. Interleukins, eds. G. Litwack. 74 : Elsevier Academic Press Inc pp 105-145.
- Khanum Raisa., Farhana M., and Muhammad Jahangir (2014). *Antioxidant evaluations of polar and non polar fractions of cajanus cajan seeds*. GC university, Pakistan.
- Malole, M.B.M., Pramono, C.S.U., (1989), *Penggunaan Hewan-hewan Percobaan Di Laboratorium*, Pusat Antar Universitas Bioteknologi IPB, Bogor.
- Lenzen, S, (2008). *The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin-Induced Diabetes*. Diabetologia.
- Kumar, E.K, Ramesh, A. And Kasiviswanath, R. (2005). *Hypoglycemic and Antihypoglycemic Effect of Gmelina asiatica Linn.in normal and in Alloxan Induced Diabetic Rats*. Andhra Pradesh, Departemen of Pharmaceutical Science. Page 729.
- Nifien, 2014, *Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Akar Garcinia rostrata Hassk.ex Hook.f Pada Mencit Jantan (Mus musculus) Dengan Metode Toleransi Glukosa dan Induksi Aloksan Vol 8 No 2 Biocelbes* hal 37-47
- Rees, D, A and Alcolado, J. C., (2005), *Animal models of diabetes mellitus*, Diabetic Medicine.
- Riyadi, S. dan Sukarmin.(2008). *Asuhan Keperawatan pada Pasien dengan Gangguan Eksokrin dan Endokrin pada Pankreas*. Edisi Pertama. Penerbit Graha Ilmu, Jakarta.
- Shahidi F, Wanasundara (1992) *Phenolic antioxidants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32: 67-103.
- Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi L., Simadibrata, M., & Setiati, S., (2009). *Buku ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Interna Publishing, Jakarta.
- Szukeleski, (2001), *The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pankreas*, Departemen of Animal physiology and Biochemistry, Universitas of Agriculture, Poland